

بررسی اثر بعضی از عوامل اکولوژیک روی بقاء چند درماتوفیت

بهرام نصر اصفهانی* و دکتر مهین مقدمی**

واژه‌های کلیدی: درماتوفیتها، PH، درجه حرارت، رطوبت

چکیده

برای تعیین تاثیر چند عامل اکولوژیکی شامل PH، رطوبت و حرارت بر روی بقاء قارچهای تریکوفیتون و یولاستوم^۱، تریکوفیتون متاگروفایتیس^۲، میکروسپورم جیپسوم و یک گونه از جنس اسکوپولاریوپسیس^۳ در خاک مطالعاتی انجام گردید. بدین منظور ۵/۰ میلی لیتر از سوسپانسیون این قارچها در سرم فیزیولوژی به یک گرم از سه نوع خاک قلیائی ضعیف (pH=۷/۸)، خنثی (pH=۷/۱) و اسیدی (pH=۵/۶) در لوله آزمایش اضافه گردید و دو نوع شرایط مرطوب و خشک فراهم شد. برای تهیه شرایط خشک، لوله‌ها به مدت سه روز در مجاورت کلروکلسیم و دیگر مواد جاذب رطوبت قرار گرفت و برای حفظ شرایط مرطوب در طول آزمایش، در لوله‌ها توسط پارافیلیم مسدود گردید. سپس کلیه لوله‌ها در حرارتهای -۸، +۸، +۱۵، +۳۰، +۴۴، درجه سانتیگراد نگهداری و در زمانهای ۴، ۱۰، ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۹۰ روز بقای قارچها در هر خاک و دما مورد بررسی قرار گرفت.

بطوریکه بهترین دوام این قارچها در خاک قلیایی ضعیف مشاهده شد از طرفی بقای قارچها

* دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

** گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، صندوق پستی ۱۴۱۵۵ ۶۴۴۶

تهران

1 - *Trichophyton violaceum*

2- *T. mentagrophytes*

3- *Scopulariopsis*

در حرارت کمتر از ۳۰ درجه سانتیگراد و شرایط خشک یا مرطوب بیشتر بود و تنها دو قارچ میکروسپوروم جیپسئوم و اسکوپولاریوپسیس توانستند درجه حرارت ۴۴+ درجه سانتیگراد را بمدت بیش از ۹۰ روز در خاک قلیایی خشک تحمل کنند.

با توجه به نتایج این آزمایش به نظر می‌رسد که سرما نمی‌تواند تاثیر نامطلوب بر بقا این قارچها در خاک مناطق مختلف داشته باشد در حالیکه نوع خاک عمل تعیین‌کننده تری در ارتباط با پایداری و گسترش جغرافیایی این ارگانیسرها است. از طرف دیگر سرایت بیماری از طریق خاک در مناطق با نوع خاک قلیایی ضعیف، بواسطه دوام طولانی تر ارگانیسرها در آن نواحی، دارای اهمیت بیشتری است.

سرآغاز

در ماتوفیتها گروه متناهی از قارچها هستند که پس از گذر از مراحل تکاملی طولانی خود با استقرار بر روی بافتهای کراتینی حیوانات و تغذیه از آن تطابق یافته بیماری کچلی یا درماتوفیتوزیس^۱ را موجب می‌گردد.

در طبیعت، خاک جایگاه اصلی بسیاری از ارگانیسرها می‌باشد. این عوامل همراه با گروه متنوعی از قارچهای بیماری‌زای دیگر، در خاک اغلب نقاط دنیا یافته می‌شوند ولی وفور آنها در مناطق مختلف بر حسب شرایط محیطی لازم جهت بقا و رشد ارگانیسرها متفاوت است و در واقع اکولوژی این قارچها یکی از عوامل مهم تعیین‌کننده اپیدمیولوژی آنها در یک منطقه می‌باشد. اوزگوریک (۸) میزان بقای تریکوفیتون متتاگروفایتیس را در خاک یوگسلاوی بیشتر از ۶ سال گزارش نمود. اندرسون (۱) تاثیر عوامل مختلف محیطی از جمله حرارت، رطوبت و مواد آلی را بر میزان پایداری میکروسپوروم جیپسئوم و تریکوفیتون متتاگروفایتیس موثر دانسته است. کمل و لاسیلیکورا (۳) میزان کربنات موجود در خاک و رطوبت بالا را از عوامل مساعدکننده برای رشد و بقا این ارگانیسرها ذکر نمودند. همچنین مانتلی (۷) میزان مقاومت در ماتوفیتها را نسبت به شرایط مختلف محیطی مانند سرما، گرما، خشکی، رطوبت، اشعه ماوراء بنفش و مواد شیمیایی مورد مطالعه قرار داد و نتیجه گرفت که حرارت و مواد شیمیایی جهت از بین رفتن

قارچها اثر بارزتری را نسبت به عوامل دیگر اعمال می‌کند. بوهم‌وزیگلر (۲) PH بیشتر از ۵ را جهت پایداری و دوام قارچهای کراتین دوست مساعد دانستند. به منظور تعیین تاثیر بعضی از عوامل اکولوژیکی شامل PH، حرارت و رطوبت بر روی بقاء چند قارچ درماتوفیت، جهت پیش بینی پراکنش آنها در نقاط مختلف ایران و تعیین نقش اپیدمیولوژیک خاک در انتقال و سرایت بیماری با توجه به پوشش خاک در مناطق مختلف و شرایط حرارتی و رطوبت متفاوت، این مطالعه انجام گردید.

روش بررسی

در این بررسی تائی PH، رطوبت و حرارت بر روی بقاء سه قارچ درماتوفیت میکروسپورم، جیبستوم، تریکوفیتون ویولاسوم، تریکوفیتون متساگروفایتیس و یک گونه از جنس اسکوپولاریو پسیس بعنوان شاهد مورد ارزیابی قرار گرفت. ابتدا سوسپانسیون قارچها در سرم فیزیولوژی با استفاده از کشت ۲۱ روزه آنها در محیط سابورو دکستروز آگار محتوی کلرامفنیکل^۱ تهیه و پس از تهیه رتھای $\frac{1}{10}$ و $\frac{1}{100}$ جمعیت تقریبی قارچها در هر میلی لیتر تخمین زده شد (شترنگه شماره ۱).

برای بررسی تاثیر PH خاک در بقا قارچهای مورد مطالعه سه نوع خاک با اسیدیته‌های ۵/۶، ۷/۱ و ۷/۹ که به ترتیب از مناطق بندرانزلی، شهرکرد و اصفهان جمع‌آوری شده بود انتخاب گردید. تعداد ۷۲۰ لوله آزمایش به سه گروه ۲۴۰ تایی تقسیم و هر گروه به یک نوع خاک اختصاص داده شد. مقدار یک گرم از خاک اسیدی، به هر کدام از لوله‌های مربوطه گروه اسیدی اضافه شد و این عمل در مورد خاکهای خنثی و قلیایی ضعیف نیز صورت گرفت. کلیه لوله‌های حاوی خاک در اتوکلاو با فشار ۱۵ پوند در دو روز متوالی، هر روز بمدت یک ساعت استریل گردید.

لوله‌های هر گروه به چهار دسته تقسیم و هر دسته به یکی از قارچها تخصیص داده شد. مقدار ۰/۵ میلی لیتر از سوسپانسیون چهار قارچ به هر دسته اضافه گردید و برای حفظ شرایط مرطوب نیمی از لوله‌های هر دسته توسط پارافیل مسدود نیمه دیگر در مجاورت کلرور کلسیم و دیگر

مواد جاذب رطوبت، آبیگری شد. کلیه لوله‌ها در حرارت‌های -8 ، $+8$ ، $+15$ ، $+30$ و $+44$ درجه سانتیگراد تقسیم و بعد از 4 ، 10 ، 15 ، 30 ، 60 و 90 روز پایداری قارچها در هر شرایط مورد ارزیابی قرار گرفت.

جهت ارزیابی قارچها، ابتدا به هر یک از لوله‌های آزمایش، $2/5$ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل اضافه گردید و پس از مخلوط شدن خاک در آن و رسوب ذرات درشت آن، از محلول روئی مقدار 1 میلی لیتر به لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت سابورو دکستروز آگاز محتوی کلرامفنیکل انتقال داده شد. محیط‌های تلقیح شده در حرارت 32 درجه سانتیگراد نگهداری و پس از 1 تا 5 هفته رشد قارچها را با مطالعه شکل ویژه کلنی آنها مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها

الف - قارچ تریکوفیتون ویولاسئوم: در بررسی نتایج این آزمایش مشخص گردید که این قارچ تنها در خاک بازی مورد مطالعه دارای پایداری بوده و در خاکهای خنثی و اسیدی حتی بعد از چهار روز نیز ارزیابی نگردید.

این قارچ در شرایط خشک در دماهای -8 ، $+8$ ، $+15$ ، $+30$ درجه سانتیگراد بترتیب 15 ، 10 ، 4 روز باقی ماند و همین درجه حرارتها را در شرایط مرطوب بترتیب 60 ، 30 ، 10 ، 4 روز تحمل نمود (شترنگه ۲).

۱- بقاء در خاک اسیدی: در آزمایش مربوط به این در ماتوفیت مشخص گردید که قارچ در خاک اسیدی خشک، حرارت‌های $+8$ ، $+15$ ، $+30$ درجه سانتیگراد را بترتیب 60 ، 10 و 4 روز تحمل کرده و در چنین درجه حرارت‌هایی در شرایط مرطوب بیش از 90 روز زنده می‌ماند.

۲- بقاء در خاک خنثی: قارچ تریکوفیتون متاگروفایتیس در حرارت‌های $+8$ و $+15$ درجه سانتیگراد و شرایط مرطوب بیش از 90 روز زنده ماند. همچنین دمای -8 و $+30$ درجه سانتیگراد را بترتیب 60 و 4 روز تحمل نمود.

این در ماتوفیت در شرایط خشک حرارت‌های -8 ، $+8$ ، $+15$ و $+30$ درجه سانتیگراد را بترتیب 30 ، 60 ، 90 روز تحمل کرد. در دو شرایط خشک و مرطوب بقاء قارچ در حرارت $+44$ درجه سانتیگراد بین 4 تا 10 روز مورد تأیید قرار گرفت.

۳- بقاء در خاک قلیایی ضعیف: این قارچ در طیف حرارتی ۸- تا ۳۰ درجه سانتیگراد شرایط خشک و مرطوب بمدت بیش از ۹۰ روز دارای قدرت پایداری بود. همچنین تحمل درجه حرارت ۴۴+ درجه سانتیگراد توسط این ارگانیسم در شرایط خاک خشک قلیائی بین ۶۰ تا ۹۰ روز و در شرایط مرطوب بین ۳۰ تا ۶۰ روز با مشاهده رشد ارگانیسم بر روی محیط کشت مورد تأیید قرار گرفت (شترنگه شماره ۳).

ج - قارچ میکروسپورم چیپسئوم:

۱- بقاء در خاک اسیدی: در بررسی نتایج این آزمایش مشخص گردید، قارچ میکروسپوروم چیپسئوم در شرایط مرطوب بمدت بیش از ۹۰ روز در دمای ۱۵+ و ۳۰+ درجه سانتیگراد و در دمای ۸- و ۸+ درجه سانتیگراد بین ۶۰ تا ۹۰ روز پایدار است. در شرایط خشک حرارت‌های ۸- و ۸+ درجه سانتیگراد را بیش از ۹۰ روز و ۱۵+ و ۳۰+ درجه سانتیگراد را بین ۱۵ تا ۳۰ روز تحمل نمود.

۲- بقاء در خاک خنثی: دوام این قارچ در شرایط خشک و مرطوب در حرارت‌های ۸- تا ۳۰+ درجه سانتیگراد یکسان و ارگانیسم پس از ۹۰ روز از کلیه نمونه‌ها بازایی گردید. این قارچ حرارت ۴۴+ درجه سانتیگراد شرایط خشک را بین ۳۰ تا ۶۰ روز و شرایط مرطوب را کمتر از ۴ روز تحمل نمود.

۳- بقاء در خاک قلیایی ضعیف: نتایج حاصل از این بررسی نشان میدهد که این قارچ دامنه حرارتی بین ۸- تا ۵۵+ درجه سانتیگراد را در شرایط خشک بیش از ۹۰ روز تحمل میکند. همچنین در شرایط مرطوب بقاء قارچ تا ۹۰ روز بعد از قرار گرفتن در حرارت‌های ۸- تا ۳۰+ درجه سانتیگراد مورد تأیید قرار گرفت، اگر چه درجه حرارت ۴۴+ درجه سانتیگراد را در این شرایط بین ۱۰ تا ۱۵ روز تحمل کرد (شترنگه شماره ۴).

د - قارچ اسکوپولاریوپسیس: این قارچ ساپروفیت معمول خاک با گسترش وسیع در طبیعت است و در این بررسی بعنوان شاهد مثبت آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. نتایج حاصل از بررسی تاثیر عوامل مختلف محیطی بر بقاء این قارچ در شترنگه شماره ۵ ثبت گردیده است.

گفتگو

مطالعه یافته‌های محققین در زمینه گسترش جغرافیایی قارچهای بیماریزای انسان نشان می‌دهد که قارچهای پاتوژن موجود در خاک توسط عوامل مختلف مانند PH، حرارت، رطوبت، املاح و آنتاگونیسم میکروبی کنترل می‌شوند. هر کدام از این عوامل می‌توانند بعنوان عامل بازدارنده در بقاء و حیات این قارچها عمل کنند.

مطالعه انجام شده نشان داد که بطورکلی قارچ تریکوفیتون ویولاسوم دارای قدرت مقاومت جزئی در برابر شرایط مختلف محیطی بوده و در خارج از بدن میزبان بزودی از بین میرود. مدت دوام قارچ در خاک تحت شرایط مختلف محیطی چندان قابل توجه و چشمگیر نیست و با گذشت حداکثر ۹۰ روز از آلوده شدن خاک به عناصر قارچی، شانس ابتلاء به درماتوفیتوزیز از طریق خاک توسط این قارچ بشدت کاهش می‌یابد. انسان دوست بودن این ارگانیسم نتایج بدست آمده از این بررسی را منطقی جلوه می‌دهد. تولید تعداد معدود کونیدیا^۱ و از دست دادن ارتباط با محیط زندگی اولیه در طول مراحل تکاملی طولانی و وابسته شدن به یک میزبان اختصاصی بنام انسان شانس بقاء این گروه از قارچها را در خارج از بدن، بمیزان زیادی کاهش داده است.

در مقایسه، قارچ تریکوفیتون متاگروفایتیس دارای قدرت دوام بیشتری در مقابل شرایط مختلف محیطی می‌باشد. این قارچ بهترین پایداری را در خاک بازی ضعیف از خود نشان داد. در حالت اخیر شرایط رطوبتی از عوامل محدود کننده بقاء قارچ بحساب نیامد و این نتیجه موافق نظریه آندرسون (۱) است که بهترین PH را برای پایداری و رشد این قارچ PH قلیایی حدود ۸ ذکر می‌کند.

این قارچ دامنه حرارتی ۸- تا ۳۰+ درجه سانتیگراد را در هر شرایط رطوبتی بمدت بیش از ۹۰ روز تحمل کرد. هاشیموتو و همکاران (۶) نیز طی تحقیقی مقاومت آرتروسپورهای^۲ قارچ را نسبت به انجماد و سرما و حساسیت آنها را به گرمای بالا و خشکی گزارش کردند.

دورال (۴) گزارش کرده است که رشد درماتوفیتها در درجه حرارتهای بالاتر از ۴۰ درجه سانتیگراد متوقف شده بزودی از بین میروند. هاشیموتو (۶) نیز حساسیت این گروه از قارچها را

1 - Conidia

2 - Arthrospore

نسبت به حرارت بالا گزارش کرده است.

دوام طولانی و پر قدرت این قارچ در خاک قلیای ضعیف در سرما و برودت و هوای گرم و در شرایط رطوبتی متفاوت، چنین واقعیتی را آشکار می‌سازد که احتمال از بین رفتن سریع آلودگی در خاک در اثر سرمای طبیعی و گرمای نواحی انتظار نمی‌رود.

در مقایسه با دو درماتوفیت توضیح داده شده، گونه خاکزی میکروسپورم جیپسوم دارای قدرت بقاء بیشتری در مقابل شرایط مختلف محیطی بود. این قارچ برودت ۸- و گرمای ۴۴+ درجه سانتیگراد را در خاک خشک بازی، در شرایط آزمایشگاهی بمدت بیش از سه ماه تحمل کرد در حالیکه آندرسون (۱) شرایط مرطوب و حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد را بهتر از شرایط دیگر ذکر می‌کند. گرین (۵) شرایط خشک را مطلوبتر از شرایط مرطوب می‌داند. در هر صورت دورال (۴) معتقد است میکروسپورم جیپسوم برخلاف گونه تریکوفیتون متناگرو فایتیس قادر است حرارت بالاتر از ۴۰ درجه سانتیگراد را در شرایط مرطوب نیز تحمل نماید که با نتایج حاصل از این بررسی مطابقت دارد.

مقاومت قارچ خاکزی اسکوپولاریوپسیس نسبت به عوامل مختلف محیطی بمقدار زیادی شبیه گونه میکروسپورم جیپسوم بوده و تنها تفاوت جزئی در بقاء طولانی اسکوپولاریوپسیس در خاک اسیدی و پایداری بیشتر میکروسپورم جیپسوم در خاک خنثی بود. چنین بنظر می‌رسد که بجز PH خاک، عوامل دیگر مربوط به آن مانند میزان املاح و مواد معدنی، بافت خاک، شوری و غیره در پایداری این ارگانیسرها در طبیعت نقش مهمی را بعهده دارند، زیرا تفاوت جزئی در اسیدتیه خاک قلیایی و خنثی مورد استفاده در این بررسی، توجیه کننده اختلاف بارز زمان بقاء قارچها در نوع خاک نیست. دمای محیط نیز تا حدود زیادی تحت تاثیر بافت خاک قرار دارد.

وجود رطوبت در محیط نیز تاثیر چندانی بر این ارگانیسیم ندارد. تنها اثر بارز این عامل در حرارت ۴۴+ درجه سانتیگراد مشاهده شد و این در واقع بواسطه خاصیت کشندگی بیشتر گرمای مرطوب در مقایسه با گرمای خشک می‌باشد.

شترنگه ۱: جمعیت تقریبی عناصر قارچی در هر لیتر با محاسبه میانگین تعداد کلنی‌ها در رقت‌های مختلف.

تعداد ذرات قارچی	تعداد کلنی در هر میلی لیتر به طور تقریبی	تعداد کلنی در رقت ۰/۱	قارچ مورد مطالعه در رقت ۰/۰۱
۳۲۰۰	۳۱۰	۳۴	اسکوپولاریوپسیس
۴۱۰۰	۴۲۰	۳۹	میکروسپورم جیپسوم
۴۰۰	۳۸	۴	تریکوفیتون ویولاسوم
۳۹۰۰	۳۶۰	۴۲	تریکوفیتون متاگروفایتیس

شترنگه ۲: پایداری قارچ تریکوفیتون ویولاسوم در شرایط مختلف حرارت و رطوبت در خاک قلیائی.

روز	۹۰	۶۰	۳۰	۱۵	۱۰	۴	ساتیگراد	
	-	-	-	-	-	+	-۸	خاک مرطوب
	-	+	+	+	+	+	+۸	
	-	-	+	+	+	+	+۱۵	
	-	-	-	-	+	+	+۳۰	
	-	-	-	-	-	-	+۴۴	
	-	-	-	+	+	+	-۸	خاک خشک
	-	-	-	+	+	+	+۸	
	-	-	-	-	+	+	+۱۵	
	-	-	-	-	-	+	+۳۰	
	-	-	-	-	-	-	+۴۴	

شترنگه ۳: مدت زمان پایداری قارچ تریکوفیتون متناگروفایتیس بر حسب روز در شرایط مختلف محیطی.

خاک قلیایی ضعیف		خاک خنثی		خاک اسیدی		نوع خاک (سانتی گراد)
خشک	مرطوب	خشک	مرطوب	خشک	مرطوب	
۹۰	۹۰	۳۰	۶۰	۶۰	۱۵	-۸
۹۰	۹۰	۶۰	۹۰	۶۰	۹۰	+۸
۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	۱۰	۹۰	+۱۵
۹۰	۹۰	۱۵	۴	۴	۹۰	+۳۰
۶۰	۳۰	۴	۴	۰	۰	+۴۴

شترنگه ۴: مدت زمان پایداری قارچ میکروسورم جیپسوم بر حسب روز در شرایط مختلف محیطی.

خاک قلیایی ضعیف		خاک خنثی		خاک اسیدی		نوع خاک (سانتی گراد)
خشک	مرطوب	خشک	مرطوب	خشک	مرطوب	
۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	۶۰	-۸
۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	۶۰	+۸
۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	۱۵	۹۰	+۱۵
۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	۱۵	۹۰	+۳۰
۹۰	۱۰	۳۰	۰	۰	۰	+۴۴

شتر نگہ ۵: مدت زمان پایداری قارچ اسکوپولاریوپسیس بر حسب روز در شرایط مختلف محیطی.

خاک قلیایی ضعیف		خاک خنثی		خاک اسیدی		نوع خاک درجه حرارت (سانتی گراد)
خشک	مرطوب	خشک	مرطوب	خشک	مرطوب	
۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	۳۰	-۸
۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	+۸
۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	+۱۵
۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	۱۵	۹۰	+۳۰
۹۰	۰	۴	۰	۰	۰	+۴۴

کتابنامه

1. Anderson, J.H. (1979). In vitro survival of human pathogenic fungi in Hawaiian beach sand. Saborudia, 17, 13-22.
2. Bohme, H. and Ziegler, H. (1969) The distribution of geophilic dermatophytes and other keratinophilic fungi in relation to the PH of soil. Mycopatho. et Myco.App., 38, 247-255.
3. Chmel, L. and Vlacilikora, A. (1977). Keratinophilic fungi in some types of the factors influencing their occurrence. Biolo. Czech. 32(1), 53-59.
4. Deverall, B.J. (1965). The physical environmental for fungal growth in G.C. Ainsworth and A.S. Sussmann (eds). The fungi, 1, 559-574.
5. Grin, E.I. and Ozegovic, L. (1963). Influence of the soil on certain dermatophytes and their evolutional trend. Mycopatho. et Myco App. 25, 23-28.
6. Hashimoto, T. and Blumenthal, H. (1978). Survival and resistance of Trichophyton mentagrophytes arthrospores. App. & Environ. Mic. 274-277.
7. Mantelli, F. (1986). Dermatormycosis : Problems inherent in contamination and decontamination of the environment. Rev. Med. V. Myco. 21 (2). 82.
8. Ozegovic, L. (1970). Trichophyton mentagrophytes and in relation to the soil. Med. Skin. Arch. 24 (316), 55-61.